

「フチオコール」ノ生化學的研究

第三報

「フチオコール」ノ結核菌發育ニ及ボス影響ニ就テ

大阪帝國大學醫學部今村内科並微生物病研究所竹尾結核研究部(主任 今村教授)

外 山 重 高

(昭和 13 年 5 月 6 日受領)

(本論文要旨ハ第 15 回日本結核病學會總會ニ於テ發表セリ。)

緒 言

結核菌ニ關スル研究ノ複雑多岐ニ互レル近代ニ於テ、ソノ發育又ハ消毒ノ方面モ些細ニ研究セラレ殊ニ種々化學的物質ノ之ニ及ボス影響ノ検査セラレタルモノ鮮カラズ。⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾ 然レドモ發見尙日淺キ物質「フチオコール」ニ就テハ未ダソノ報告アルヲ聞カズ。抑々「フチオコール」ハ結核菌體ノ一成分ニシテ、⁽⁴⁾ 色素トシテコレヲ Witt ノ説⁽⁵⁾ ニヨリテ觀レバ Chromophore Gruppe トシテ Chinon 核アリ、Auxochrome Gruppe トシテ Hydroxyl 基ヲ有シ、酸性色素ニ⁽⁶⁾ 屬スベシ。然レドモ亦「フチオコール」ハ

酸化還元型物質⁽⁷⁾ ニシテ、ソノ Potential ハ甚ダ低ク、殊ニ結核菌體内ニ於テハ「グルタチオン」ノ未ダ證明セラレズ、「ズルフオヒドリール」ノ存在ニモ不明ノ今日、結核菌體内組織呼吸ニ關シ重大ナル示唆ヲ感ズル所ナリ。

茲ニ余ハ「フチオコール」ノ家兔血糖竝ニ血清尿酸値ニ及ボス作用⁽⁸⁾ ヲ檢シ、又ソノ尿成分ニ及ボス影響⁽⁹⁾ ヲ檢セシ處アリ。進ミテ「フチオコール」ノ結核菌體自身ニ及ボス影響ヲモ見知セント欲シ、先ヅソノ發育ニ對スル作用ヲ試験セリ。

實驗 1 Slide cell culture 試験

1887 年 Foder⁽¹⁰⁾ ニ創レル全血液ニヨル菌培養試験ハ生體ト菌發育トノ關係ヲ簡易ニ了知セシムル所大ニシテ爾來數多ノ實驗報告⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾ セラレタリ。Wright⁽¹⁶⁾ ハ本法ヲ改變シテ Slide cell culture 法ヲ考案セリ。佐藤氏等⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾ ハ今村教授御指導ニヨリテ Wright 氏法ヲ更ニ改良セラレタリ。全血液ヲ用ヒ結核菌ニ對スル化學的物質ノ作用ヲ檢セルモノハ Fry⁽²⁰⁾ ノ「サノクリヂン」ノ作用ヲ檢セルアリ、又 Hess und G. Meissner⁽²¹⁾ ノ諸種色素ノ作用ヲ檢セルモノ等アリ。

「フチオコール」ハ化學的物質ニシテ又結核菌體

ノ一成分タリ。結核病竈ニ於テ自然融解セル結核菌體ヨリ遊離スル「フチオコール」ノ量ハ極微量ニシテ生體内ニ於テ實際的意義ナシト假定スルモ尙化學的見地ヨリ本物質ガ全血液内ニ於テ結核菌發育ニ及ボス影響ハ興味少シトセズ。

試験血液ハ海狸血液ヲ用ヒ、「フチオコール」ノ諸種濃度ノ無菌的落液ヲ作りコレノ 0.1 珇ニ全血液 0.9 珇ヲ加ヘ所要濃度ヲ得、之ヲ以テ緒方氏⁽¹⁸⁾ 澁川氏⁽¹⁹⁾ 等ノ行ヘル方法ニ從ヒテ實驗シ、3 日培養及ビ 7 日培養ニ於テソノ成績ヲ觀察セリ。對照トシテハ左ノ 2 種ヲ實施セリ。

1. 「フチオコール」加所要標本數枚作製後約 20

分ニシテツノ中 1 枚水醋酸加 10%「フォルマリ
ン」水ニ投ジ、固定殺菌シ水洗乾燥染色シ、菌ノ
分布ノ平等ナルヤ否ヲ檢ス。

2. 「フチオコール」ヲ加ヘズ全血液ヲ以テ所定
ノ操作ヲナシ 3 日及ビ 7 日培養ヲナセルモノヲ
檢ス。

實驗成績ヲ表示スレバ第 1 表乃至第 3 表ノ如
シ。

第 1 表
對 照

| 稀釋度 | 菌聚 落數 回数 | 1 | 2 | 5 | 11 | 16 | 21 |
|------|----------------|----|---|----|----|----|----|
| | | 1 | 4 | 10 | 15 | 20 | ∞ |
| 100萬 | 1 | 10 | | | | | |
| | 2 | 7 | 2 | | | | 2 |
| | 3 | 11 | | | | | |
| | 4 | 3 | | 1 | | | |
| | 5 | 1 | | | | | |
| | 合 計 | 32 | 2 | 1 | | | 2 |
| 10萬 | 1 | 5 | 1 | | | | |
| | 2 | 3 | | | | | |
| | 3 | 1 | 3 | | 1 | | |
| | 4 | 5 | | | | | |
| | 5 | 7 | 1 | | | | |
| | 合 計 | 21 | 5 | | 1 | | |
| 1萬 | 1 | 7 | 1 | | | 1 | |
| | 2 | 10 | | 1 | | | |
| | 3 | 3 | 1 | | | | |
| | 4 | 17 | | | | | |
| | 5 | 5 | | | 1 | | |
| | 合 計 | 42 | 2 | 1 | 1 | 1 | |
| 1千 | 1 | 5 | 1 | | | | |
| | 2 | 4 | 2 | | | | |
| | 3 | 8 | | | | | |
| | 4 | 1 | 2 | | | | |
| | 5 | 8 | | | | | |
| | 合 計 | 26 | 5 | | | | |
| 全血液 | 1 | 4 | | | | | |
| | 2 | 12 | 1 | | | | |
| | 3 | 7 | | | 1 | | |
| | 4 | 5 | 2 | | | | |
| | 5 | 2 | | | | | |
| | 合 計 | 30 | 3 | | 1 | | |

第 2 表
3 日培養

| 稀釋度 | 菌聚 落數 回数 | 1 | 2 | 5 | 11 | 16 | 21 |
|------|----------------|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 4 | 10 | 15 | 20 | ∞ |
| 100萬 | 1 | 5 | 2 | | | | |
| | 2 | 12 | | | | | |
| | 3 | 5 | | | | 1 | |
| | 4 | 3 | 5 | | | | |
| | 5 | 3 | | | | | |
| | 合 計 | 28 | 7 | | | 1 | |
| 10萬 | 1 | 3 | 2 | | | | |
| | 2 | 4 | 1 | 1 | | | |
| | 3 | 3 | 4 | 1 | | | |
| | 4 | 3 | 1 | 2 | | | |
| | 5 | 4 | 3 | | | | |
| | 合 計 | 17 | 11 | 4 | | | |
| 1萬 | 1 | 4 | 2 | | | | |
| | 2 | 5 | 2 | 1 | | | |
| | 3 | 8 | 1 | 1 | | | |
| | 4 | 3 | | | | | |
| | 5 | 12 | 3 | 1 | 1 | | |
| | 合 計 | 32 | 8 | 3 | 1 | | |
| 1千 | 1 | 5 | 2 | | | | |
| | 2 | 8 | 3 | | | | |
| | 3 | 7 | 1 | | | | |
| | 4 | 5 | 3 | | | | |
| | 5 | 6 | 3 | | | | |
| | 合 計 | 31 | 12 | | | | |
| 全血液 | 1 | 1 | 2 | 1 | | | |
| | 2 | | 5 | 2 | | | |
| | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | | |
| | 4 | | 1 | 12 | | | |
| | 5 | | 7 | 4 | 1 | | |
| | 合 計 | 2 | 18 | 22 | 3 | | |

第 3 表
7 日培養

| 稀釋度 | 菌聚 落數 回数 | 1 | 2 | 5 | 11 | 16 | 21 |
|------|----------------|---|---|----|----|----|----|
| | | 1 | 4 | 10 | 15 | 20 | ∞ |
| 100萬 | 1 | | 2 | 8 | | | 2 |
| | 2 | | 1 | 2 | 8 | | |
| | 3 | | | 5 | | 4 | |
| | 4 | | 1 | | 9 | 1 | |
| | 5 | | | 3 | 4 | | |
| | 合 計 | | 4 | 18 | 21 | 7 | |

| | | | | | | | |
|-----|----|----|----|----|---|---|--|
| 10萬 | 1 | 4 | 3 | 2 | 1 | | |
| | 2 | 1 | 2 | 3 | | | |
| | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | | |
| | 4 | | 1 | 2 | 3 | | |
| | 5 | 3 | 1 | 4 | 2 | | |
| | 合計 | 11 | 9 | 12 | 9 | | |
| 1萬 | 1 | | 4 | 6 | | | |
| | 2 | 4 | 3 | 1 | 3 | | |
| | 3 | | 2 | 4 | | | |
| | 4 | 5 | 3 | 2 | | | |
| | 5 | | 2 | | 3 | 1 | |
| | 合計 | 9 | 14 | 13 | 6 | 1 | |
| 1千 | 1 | | 3 | | | | |
| | 2 | 5 | 4 | | | | |
| | 3 | | 1 | | | | |
| | 4 | 2 | 3 | | | | |

| | | | | | | | |
|-----|----|----|----|----|----|--|--|
| | 5 | 6 | 2 | 2 | | | |
| | 合計 | 13 | 13 | 2 | | | |
| 全血液 | 1 | | 1 | 2 | 1 | | |
| | 2 | | | 5 | | | |
| | 3 | | 1 | | 2 | | |
| | 4 | 1 | | 7 | 5 | | |
| | 5 | | 3 | 6 | 8 | | |
| | 合計 | 1 | 5 | 20 | 16 | | |

觀察

海溼全血液ヲ用ヒ、「フチオコール」ノ千倍、一萬倍、十萬倍、百萬倍各種「スライドセルカルチュア」法結核菌發育試驗ヲ實施セル成績ヲ觀察スルニ、3日培養ニテハ未ダ對照ト著シキ差異ヲ認メ難シ。7日培養ニ至リテハソノ百萬倍ニ於テ稍々著明ニ菌ノ發育ヲ認メ得ベシ。

實驗 2 培基培養試驗

菌ノ發育ヲ檢スルニソノ培基ハ最モ重大ナル關係アル所ナリ。然レドモ「フチオコール」ハ純化學的物質ナルガ故ニ余ハ組成ノ明ナル Long 氏合成培基ヲ最モ便ナリト信ジ之ヲ選ベリ。幸「フチオコール」ハ Long⁽²²⁾ 氏培基ニ容易ニ溶解シ特有ノ深紅色ヲ呈シ、ソノ濃度ニ比例シテ色彩ハ階段的濃淡ヲ示セリ。余ハ Long 氏培養液ヲ以テ「フチオコール」ヲ千倍ニ溶解シ爾後倍數稀釋ヲ以テ一萬倍、十萬倍ノ4種ヲ作り PHヲ修正シ之ニ對照トシテ Long 氏培基ヲ加ヘ中試驗管ニ各5珄ヲ分注シ滅菌シ之ニ馬鈴薯固形培基上ニ發育良好ナル人型結核菌苔(上池株)ヲ滅菌生理的食鹽水上ニ浮カシメテ洗滌セルモノヲ一白金耳宛可及的等量ニ移植シ、ソノ發育ヲ觀察セリ。發育ノ狀態ヲ計數的ニ示スハ理想ナレドモ實際上不可能ナルヲ以テ肉眼的ニ觀察セル所ヲ左ノ符號ニヨリ表示セントス。

- 靜置ノママナルニ菌苔ノ培養液中ニ沈下セルモノ
- ± 菌ノ發育ヲ認メ難キモノ
- +
- ++ 菌苔ノ發育培基液面半ニ進ミタルモノ
- +++ 菌苔ノ發育培基液面大部ニ達セルモノ

卅 菌苔ノ發育試驗管壁ニマデ上昇シ來レルモノ

更ニ寫眞ヲモ撮影シソノ狀態ヲ示シ、又最後ニ菌塊ヲ捕集シ乾燥秤量シテ表示スル所第1表以下ノ如シ。

第 1 表
昭和 11 年 3 月 28 日

| 倍數 番 號 | 千 倍 | 一萬倍 | 十萬倍 | 百萬倍 | 對 照 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1 | ± | ++ | + | +++ | + |
| 2 | ± | + | ++ | ++ | + |
| 3 | ± | + | + | +++ | ++ |
| 4 | ± | + | ++ | ++ | + |
| 5 | ± | + | ++ | ++ | + |
| 6 | ± | ++ | + | ++ | + |
| 7 | — | + | + | +++ | ++ |

菌移植後 3 日目ニシテ「フチオコール」千倍液ニテハ更ニ發育ヲ認メズ。既ニ菌苔ノ褐色ニ變色シ來レルモノアリ。又培基底ニ沈下セルモノアリ。之ニ反シ「フチオコール」百萬倍液ニテハソノ發育既ニ液面半以上ニ達セルモノアリテ對照ニ比シ稍々良好ノ感アリ。

菌移植後 6 日目ニシテ「フチオコール」千倍液ニ

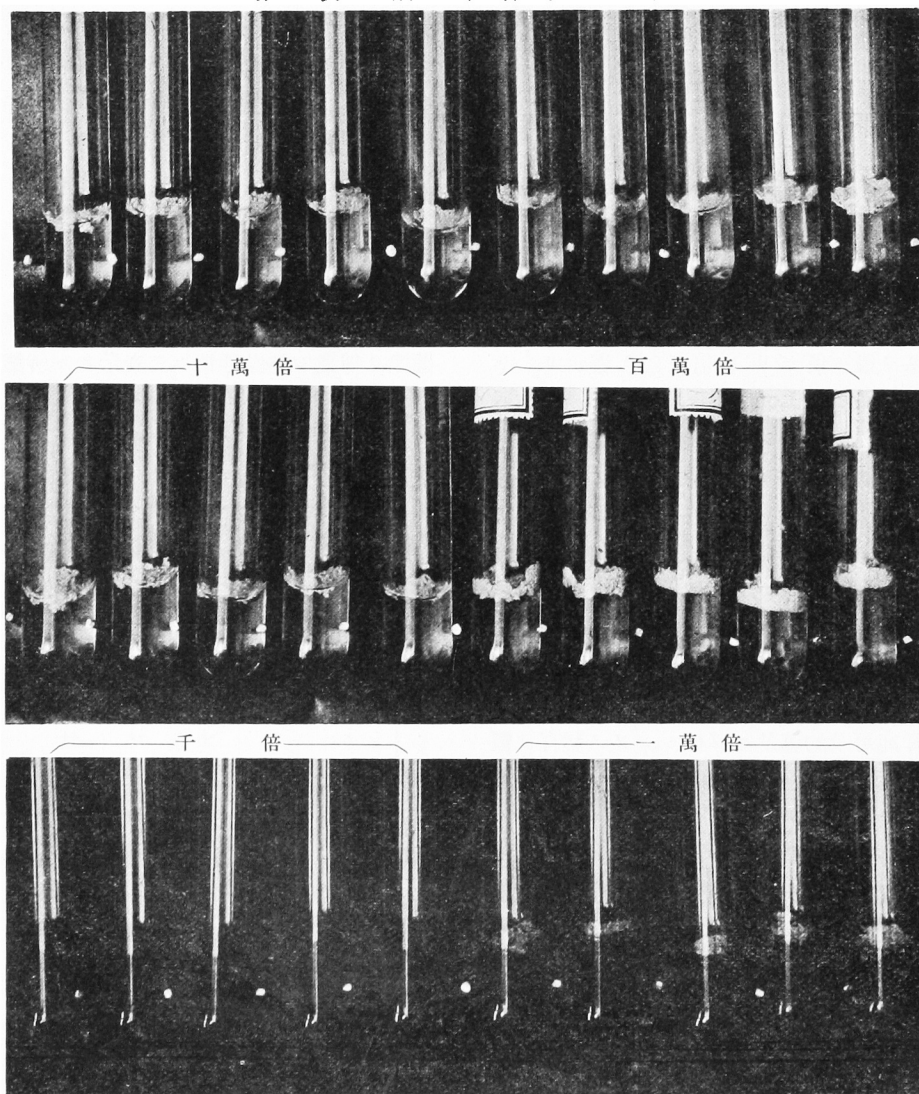
第 2 表 昭和 11 年 3 月 31 日

| 番 號 | 倍 數 | | | | | 對 照 |
|-----|-----|-------|-------|-------|---|-----|
| | 千 倍 | 一 萬 倍 | 十 萬 倍 | 百 萬 倍 | | |
| 1 | — | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 2 | — | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 3 | ± | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 4 | ± | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 5 | — | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 6 | — | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |
| 7 | — | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 |

テハ菌ハ次第ニ死滅シユクモノ、如ク既ニ概ネ菌苔ハ液中ニ沈下セリ。之ニ反シ「フチオコール」百萬倍液ニテハ益々發育良好ノ感アリ。既ニ試験管壁ニ稍々上昇發育セルモノアリ。「フチオコール」ノ深紅色ハ菌ノ發育ト共ニ次第ニ褪色シユクヲ認メタリ。

菌移植後 9 日目ニシテ「フチオコール」千倍液ニテハ最早菌苔ハ全部培基液中ニ沈下セリ。更ニ發育ヲ認メズ。之ニ反シ「フチオコール」百萬倍

第 3 表 昭和 11 年 4 月 3 日 對 照



液ニテハ對照ヨリモ稍々良好ニ發育セルヲ認メ得ベシ。「フチオコール」一萬倍液ニテハ對照ヨリ稍々劣リ十萬倍液ニテハ略々對照ニ等シ。

第 4 表 昭和 11 年 4 月 16 日

| 番 號 | 倍 數 | 千 倍 | 一 萬 倍 | 十 萬 倍 | 百 萬 倍 | 對 照 |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-----|
| 1 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 2 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 3 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 4 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 5 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 6 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |
| 7 | — | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 | 冊 |

菌移植後 3 週間目ニシテ「フチオコール」千倍液ヲ除キ他ハ殆ンド全部試験管壁ニ上昇發育ヲ示シ更ニ差別ヲ認メ難シ。

第 5 表 昭和 11 年 4 月 27 日

| 倍 數 | 千 倍 | 一 萬 倍 | 十 萬 倍 | 百 萬 倍 | 對 照 |
|----------|-----|-------|-------|-------|-------|
| 試験管數 | 7 | 7 | 7 | 7 | 10 |
| 總菌量 g | — | 0.493 | 0.504 | 0.460 | 0.552 |
| 試験管平均量 g | — | 0.070 | 0.072 | 0.065 | 0.055 |

菌移植後 4 週間目ニシテ加熱殺菌シ、一萬倍、十萬倍、百萬倍、對照各別ニ菌塊ヲ濾紙ニ上集メ溜水ヲ以テ 5 回洗滌シ、乾燥器ニ入レ、攝氏約 80 度ニ 3 日間保チ乾燥セシメ、後菌塊ヲ秤量瓶ニトリテ秤量セル所第 5 表ノ如シ。

之ヲ見ルニ菌ノ發育セザル「フチオコール」千倍液ヲ除キ「フチオコール」一萬倍、十萬倍、百萬倍各培基共ニ對照ニ比シソノ平均菌量多シ。

第 6 表 培基 PH ノ變化

| 倍 數 | 千 倍 | 一 萬 倍 | 十 萬 倍 | 百 萬 倍 | 對 照 |
|-----|-----|-------|-------|-------|-----|
| 移植前 | 7.0 | 6.9 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| 培養後 | — | 6.0 | 6.2 | 6.1 | 5.8 |

PH ガ菌ノ發育ニ影響シ、又菌ノ發育ニヨリ PH ノ變ズルコトアルハ周知ノ事實ナリ。本實驗ニ當リ PH ノ變動セル所ハ第 6 表ノ如シ。之ニヨツテ觀レバ培養後ハ稍々酸性ニ傾ケリ。「フチオコール」ノ色彩ガ菌ノ發育ト共ニ褪色スルハコノ PH ノ變化ニモヨルベシ。

察

「フチオコール」ヲ Long 氏合成培基ニ加ヘ千倍一萬倍、十萬倍、百萬倍ナラシメテ結核菌ノ發育ヲ檢シタルニ千倍ニ於テハ菌ハ全ク發育セズ。一萬倍以上ニテハ發育佳良ニシテ殊ニ百萬倍ニ於テハ早期ニ菌ノ發育ヲ促進セシム。

摘 要

「フチオコール」ヲ加ヘ Slide cell culture 法竝ニ Long 氏合成培基ニヨリ結核菌ノ發育ヲ檢シタルニソノ一定ノ濃度ニ於テハ結核菌ノ發育ヲ促進セシムルノ作用アルヲ認メタリ。

終ニ臨ミ今村教授、西垣、澁川兩講師ノ御指導御校閲ヲ深謝ス。

文 獻

1) F. Kirstein, Deut. med. Woch. Jg. 48. S. 1579. (1922). 2) P. Uhlenhuth und E. Hailer, Beitr. z. klin. d. Tbc. Bd. 50. S. 208. (1922). 3) 寺尾, 結核. 第 8 卷. 361 頁, 433 頁, 460 頁. (1930). 寺尾, 結核. 第 9 卷. 535 頁. (1931). 4) R. J. Anderson und M. Newman, J. of biol. Chem. 101. p. 773. (1933). 5) O. N. Witt, Ber. d. deut. Chem. ges. 9. S. 522. (1876). 6) A. Pappenheimer., Grundriss d. Farbenchem. (1901). 7) E. C. Ball, J. of biol. Chem. 106. p. 515. (1934). 8) 外山, 結核. 第 14 卷. 175 頁. (1936). 9) 外山, 結核. 第 14 卷. 250 頁. (1936). 10) G. Foder, Deut. med. Wochensch. Bd. 1. S. 745. (1887). 11) H. Buchner und Orthenberger M., Arch. f. Hyg. Bd. 10, (1890). 12) H.

Schottmüller und W. Barfurth, Beitr. z. klin. d. Infektionskrankheit. Bd. 3, (1914). 13) G. D. Heist, S. Solis-cohen und M. Solis-chen Journ. of Immunol. Vol. 3, (1915). 14) M. Sonake, Zentbl. f. Bakt. orig. Bd. 115, (1929). 15) 高橋, 芹村, 結核. 第 8 卷. 第 12 號. (1930). 16) A. E. Wright, Lancet Vol. 1, (1924). 17) 佐藤, 實驗醫學雜誌. 第 10 卷. 第 8 號. (1926). 18) 緒方, 結核. 第 10 卷. 第 3 號. 117 頁. (1932). 19) 澁川, 結核. 第 11 卷. 第 2 號. 63 頁. (1933). 20) R. M. Fry, Brit. Journ. of Exp. Pathol. Vol. 7, (1927). 21) Hess und G. Meisner, Zentbl. f. Bakt. orig. Bd. 115, (1929). 22) Long, Amer. Rev. of Tbc. Vol. 13. p. 773. (1933).